

Conteúdo de miristicina em preparados de noz moscada (*Myristica fragans*, Houtt)

Myristicin contents in nutmeg (*Myristica fragans*, Houtt) preparations

RIALA6/1149

Guiomar Francisca TEIXEIRA¹, Jaqueline GARDA BUFFON², Ana Luiza Mucillo BAISCH¹, Eliana BADIALE FURLONG^{2*}

* Endereço para correspondência: ²Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Departamento de Química, Rua Engenheiro Alfredo Huch, 475, CEP 96 201-900, Rio Grande, RS/ Brasil, e-mail: dqmebf@furg.br

¹ Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Departamento de Ciências Fisiológicas, Rio Grande, RS/ Brasil

² Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Departamento de Química, Rio Grande, RS/ Brasil

Recebido: 01/10/2007 – Aceito para publicação: 19/02/2008

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi de estabelecer um procedimento para determinar os teores de miristicina em sementes, óleo essencial e extrato aquoso de noz-moscada, com a finalidade de avaliar as propriedades benéficas e/ou tóxicas desta semente. As amostras de noz-moscada em pó e de semente foram coletadas nas regiões sul e sudeste do Brasil. A composição das frações, umidade, proteína, extrato etéreo, cinzas foi determinada conforme a AOAC. A miristicina foi determinada nas amostras de sementes, na fração lipídica e nos respectivos extratos hidrotérmicos e na infusão por meio de cromatografia gasosa. As sementes de noz-moscada comercializadas na forma de pó apresentaram maior variabilidade em sua composição centesimal, especialmente demonstrada pelo teor de nitrogênio (6 a 12%) e extrato etéreo (15 a 36%). O procedimento proposto para determinar miristicina mostrou a melhor performance quando a determinação foi realizada no extrato hidrotérmico da fração lipídica extraída a frio, sendo a recuperação de 88%, o coeficiente de variação 9% e o limite de quantificação de 3 mg/g de amostra. Os maiores teores de miristicina foram encontrados no extrato hidroalcoólico da fração lipídica das sementes e do pó de noz-moscada, respectivamente de 37 e 22 mg/g de amostra.

Palavras-chave. *Myristica fragans*, miristicina, composição.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to establish a procedure for determining - miristicyn contents in nutmeg seeds, essential oil and liquid extract, in order to assess -the both benefic and toxic properties of nutmeg. The powdered nutmeg and nutmeg seeds samples of were collected from the south and southeast regions of Brazil. The moisture, protein, ether extract and ash contents were determined in accordance with AOAC. Miristicyn was measured in ground nutmeg, in lipidic fraction and its respective hydrothermal extract, and in the infusion by means of gas chromatography. The powdered nutmeg presented the highest variation in its centesimal composition, particularly demonstrated by the nitrogen contents (from 6.0 to 12.0%), and ether extract (from 15.0 to 36.0%). The proposed procedure for determining miristicyn showed the best results when it was performed in the hydrothermal extract derived from the lipidic fraction, being the recuperation rate of 88.0%, 9% of coefficient variation, and the limit quantification of sample was 3mg/g. The highest myristicin contents were found in the seed and powdered nutmeg hydroalcoholic extracts from lipidic fraction, being 37 and 22 mg/g respectively.

Key words. *Myristica fragans*, miristicyn, composition.

INTRODUÇÃO

A noz-moscada, *Myristica fragans*, Houtt, é uma planta cultivada no oriente e que foi introduzida na cultura ocidental ao final da idade média. A semente foi originariamente empregada como condimento, tradição que se mantém até o presente em preparações domésticas e industriais de alimentos doces, salgados e bebidas. A indústria farmacêutica, a exemplo da cultura popular, emprega os óleos essenciais desta semente para formulação de medicamentos para tratamento de infecções respiratórias, problemas do aparelho digestivo e aromatização de cosméticos^{1,2,3}.

A semente ralada ou o óleo de noz moscada, por seu caráter sensorial de conferir aroma agradável e sabor ligeiramente picante aos alimentos são empregados para preparo de uma série de pratos doces e salgados de consumo diário em diferentes regiões do país⁴. As características flavorizantes, o caráter conservador (antimicrobiano e antioxidante), anticancerígeno bem como o efeito tóxico da semente são atribuídos aos óleos essenciais que a constituem^{5,6,7,8,9,10,11}. A ingestão deste condimento, em quantidades não usuais, de modo acidental ou intencional, tem causado intoxicações potencialmente letais, caracterizadas por quadros excitatórios, alucinatórios e distúrbios no aparelho digestivo, como os mais frequentes^{3,7,8,9,11,12}.

Lee, Jeong e Kim¹² identificaram no óleo essencial da semente de noz moscada vários componentes que são precursores metabólicos de compostos do tipo MDA (metilenedioxianfetamina), aos quais podem ser atribuídos os efeitos psicoativos observados quando do consumo em doses elevadas. Segundo estes autores são necessárias 20 gramas de noz- moscada, para desencadear efeitos psicoativos e alucinatórios. Nesta massa estão contidos aproximadamente, 210mg de miristicina, 70mg de elemicina e 39mg de safrol, que podem ser convertidos, “in vivo”, para as formas amínicas potencialmente causadoras de dependência química semelhante a causada pelo consumo de anfetaminas. Randerath et al.⁹ demonstraram experimentalmente a correlação entre o consumo de miristicina e a formação de adutos de DNA no fígado de animais de laboratório. Lee et al.¹² e Yun et al.¹³ estudaram o metabolismo desta substância em ratos e em humanos, respectivamente, ficando demonstrado a oxidação pelo citocromo P 450 e a excreção das formas oxidativas pela urina.

Efeitos benéficos também são atribuídos a miristicina destacando-se dentre eles as ações inseticidas, fungicidas e ativador de glutatona S transferase prevenindo a formação de tumores^{3,4,6,7,8,11}. A miristicina e seus derivados, com estas propriedades funcionais controversas e demonstrado potencial psicoativo, também podem ser encontrados em outros vegetais tais como cenoura, pimenta preta e em óleos essenciais de diferentes agentes flavorizantes empregados no preparo de bebidas tipo cola e alcoólicas^{1,2,14}.

Considerando o uso deste condimento no preparo de diversas formulações alimentícias incluindo refrigerantes^{4,5,12,14}

associados a outras fontes naturais de miristicina seria interessante avaliar o risco/benefício do consumo crônico deste composto nas diferentes frações de noz-moscada empregadas na dieta. Para isto seria interessante dispor de uma metodologia exequível na maioria dos laboratórios que atuam avaliando a qualidade de alimentos ou seus efeitos biológicos.

Com propósito de contribuir para avaliações de propriedades benéficas e/ou tóxicas da noz-moscada nas formas usuais de seu emprego, o objetivo deste trabalho foi estabelecer procedimento para determinar os teores de miristicina em sementes, óleo essencial e extrato aquoso de noz-moscada, das formas disponíveis comercialmente para serem empregados em formulações alimentícias e chás medicinais preparados em nível doméstico e industrial.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem, preparo e caracterização físico-química das amostras.

As amostras de noz-moscada adquiridas em estabelecimentos comerciais de cidades localizadas na região sul e sudeste do país em diferentes pontos e períodos do ano foram agrupadas, por similaridade de marcas comerciais, em três lotes constituídos por sementes e três com amostras em pó.

As amostras em grãos foram trituradas em moinho de facas da Marca Tecnal durante 40 segundos a 80g e os lotes das amostras em pó foram homogeneizadas com auxílio de pás. Todos os lotes foram armazenados em frascos escuros evacuados sob nitrogênio, guardados em ambiente fresco e ao abrigo da luz até a ocasião do emprego em determinações analíticas.

A composição centesimal das amostras foi determinada conforme os procedimentos recomendados pela AOAC¹⁵. As frações analisadas foram: umidade em estufa com circulação de ar a 60°C até peso constante; cinzas em mufla a 550°C durante 3 horas; extrato etéreo obtido em sistema Soxhlet após refluxo de 6 horas com hexano; proteína pelo micrométodo de Kjeldahl empregando o fator 6,25 para conversão do percentual de nitrogênio em proteína.

Determinação de miristicina

Os diferentes lotes de amostras de noz-moscada em pó e sementes foram homogeneizados e passaram a constituir dois lotes, um homogeneizado das sementes e outro de noz-moscada em pó moída. A partir deles foram preparados os extratos hidrotérmicos, as frações lipídicas e seus respectivos extratos hidrotérmicos, e os extratos aquosos para avaliar o conteúdo de miristicina.

Estabelecimento de condições cromatográficas

Foi preparada uma solução estoque de miristicina dissolvendo 100mg de padrão, adquirido da Sigma Chemical Company, em 10mL de hexano. A solução padrão foi obtida

diluindo 1mL de solução estoque em 25mL de hexano seguido por homogeneização da mistura em banho-ultra sônico por 5 minutos.

As condições cromatográficas estabelecidas, pela injeção de 1µL de solução padrão, foram: injetor split/splitless a 250°C (abertura aos 0,75 minutos e fluxo de limpeza 0,75mL/min), detector de ionização de chama a 300°C, gás de arraste hidrogênio 1 mL/minuto, coluna cromatográfica DB-17 de 30m, com 0,25mm de diâmetro interno. A programação da coluna foi 50°C/1minuto, aumentando 8°C/minuto até 180°C totalizando 25 minutos. O tempo de retenção do padrão foi empregado para identificar a miristicina nas amostras, sendo a confirmação de tempo de retenção realizada por co-cromatografia com concentrações conhecidas de padrão.

Para construção da curva analítica foram preparadas soluções contendo 50, 100, 200, 300, 400 µL/mL de onde foram injetadas 1µL no cromatógrafo nas condições estabelecidas. Da relação concentrações de padrão injetadas e sinais analíticos (área do pico) registrados pelo software Star, versão 4.1, foi estabelecida uma equação linear.

Determinação de miristicina em extrato hidrotérmico da noz moscada

Foram pesados 15 gramas de amostra que foram submetidos à destilação por arraste a vapor em destilador tipo Clevenger, recolhendo o destilado à temperatura de 55°C. O volume a ser coletado foi padronizado pelo índice de refração variando entre 1,3400 e 1,3700, determinado em refratômetro tipo Abbé. O volume final do extrato foi aferido para 25mL.

Para determinação cromatográfica de miristicina foram tomados 5mL do extrato hidrotérmico que foi submetido a 3 partições com 10mL hexano. As frações hexânicas foram reunidas e evaporadas sob atmosfera de nitrogênio. O extrato seco foi dissolvido em 2mL de hexano sob agitação com banho ultra sônico sendo injetado 1µL em cromatógrafo gasoso nas condições descritas acima.

Determinação de miristicina em fração lipídica da semente de noz moscada

A fração lipídica das amostras de noz-moscada foi extraída a frio empregando o método de Bligh-Dyer¹⁶ (1959); cujo procedimento consistiu em: pesar 5g de amostra moída à qual foi adicionada de uma mistura de 30mL de solução metanol: clorofórmio: água (2:1:0,8). O volume de água acrescentado na mistura levou em consideração a proporção de solventes e conteúdo de umidade da amostra.

A mistura foi homogeneizada em erlenmeier com tampa por 30 minutos em agitador horizontal. Foram adicionados 7,5mL de clorofórmio e 7,5mL de água destilada seguindo-se a homogeneização por mais 30 minutos. Os sólidos foram separados por centrifugação e o sobrenadante foi submetido a três partições com 10mL de clorofórmio. As frações clorofórmicas separadas nas lavagens foram avolumadas a 50mL dos quais 10mL foram coletados e secos em cápsula de

porcelana previamente tarada em estufa com circulação de ar a 60°C. A massa obtida após a secagem foi utilizada para estimar o percentual de lipídios extraídos das amostras.

Ao restante do extrato clorofórmico foram adicionados 30mL de água e a mistura foi submetida a 3 partições com 10mL de hexano. As alíquotas da partição foram reunidas e evaporadas em frascos escuros sob atmosfera de nitrogênio. No momento da determinação cromatográfica os extratos secos foram dissolvidos em 2mL de hexano sob agitação em banho ultra sônico e 1µL foi injetado em cromatógrafo gasoso nas condições padronizadas.

Determinação de miristicina em extrato hidrotérmico da fração lipídica das sementes de noz-moscada.

O óleo extraído de 15g de amostra moída de noz-moscada pelo método de Bligh e Dyer¹⁶ foi colocado em balão próprio do destilador de Clevenger para extração hidrotérmica dos voláteis, à temperatura de 55°C. O material condensado foi coletado em frasco escuro sendo o volume coletado padronizado pelo índice de refração, entre 1,3400 e 1,3700 medido em refratômetro tipo Abbé, sendo a fração destilada pesada e o volume final aferido para 25mL.

Para determinação cromatográfica foram tomados 10mL do extrato hidrotérmico que foram submetidos a 3 partições com 10mL de hexano. As frações hexânicas foram reunidas e secas sob atmosfera de nitrogênio. Os extratos secos foram dissolvidos em 2mL de hexano sob agitação em banho ultra-sônico e 1µL injetado em cromatógrafo gasoso nas condições padronizadas.

Determinação de miristicina na fração aquosa de sementes de noz moscada

Os extratos aquosos foram obtidos considerando o preparo doméstico de chá de noz-moscada. A 10g de pó de noz moscada foram adicionados 250mL de água fervente mantendo a temperatura por 5 minutos em banho-maria fervente (aproximadamente 98°C). O extrato aquoso foi resfriado e agitado em agitador horizontal por 60 minutos em recipiente tapado, sendo depois separados por filtração em papel de filtro. Foram tomados 10mL de filtrado e efetuadas 3 partições com hexano que reunidas foram evaporadas sob nitrogênio. No momento da determinação cromatográfica o extrato seco foi dissolvido com 1mL de hexano e 1µL injetado em cromatógrafo gasoso nas condições padronizadas.

Avaliação da performance dos procedimentos

O limite de quantificação foi determinado diluindo cada preparado até que o pico observado tivesse área equivalente a do padrão de menor concentração de miristicina empregado para a obtenção da curva analítica. A recuperação do procedimento foi testada pela fortificação de alíquotas de noz-moscada moída com volume de soluções de miristicina de modo que as concentrações fossem 10; 20 e 30mg/g de amostra. Após 18 horas de secagem à temperatura ambiente (25°C) foram

observados os procedimentos descritos para cada fração analisada, respectivamente extrato hidrotérmico das sementes, fração lipídica, extrato hidrotérmico do óleo bruto e infusão. A Figura 1 apresenta o fluxograma do procedimento adotado para obtenção de cada fração estudada.

RESULTADOS

Caracterização físico-química das amostras

A ANVISA¹⁷ estabelece que noz-moscada pode ser comercializada sob a forma de pó ou sementes o que norteou a coleta de amostras dos dois tipos. Durante a coleta foi observado que não estavam disponíveis muitas marcas de noz moscada nas diferentes regiões amostradas, sendo escolhidas para comporem os lotes formados para análise 3 marcas disponíveis nas regiões amostradas na forma de pó e semente inteira.

A variabilidade de composição química de tecidos vegetais é influenciada por condições tais como solo, clima, período de coleta, armazenamento, processamento e outras variáveis bióticas e abióticas, e neste caso específico da noz-moscada estes aspectos são amplamente enfatizados pela literatura,^{1,3,4,5} o que tornou imprescindível a caracterização dos lotes formados com as marcas coletadas antes da continuidade do trabalho.

Os resultados da composição, expressos como g/100g das formas semente e pó de noz-moscada nos lotes formados com as diferentes marcas estão demonstrados na Tabela 1.

As frações umidade e extrato etéreo foram as que apresentam os maiores coeficientes de variação para a mesma marca e conseqüentemente diferiram significativamente entre as formas pó ou semente. Os resultados da determinação da matéria nitrogenada das amostras comercializadas sob a forma de pó também diferiram significativamente entre si. Na fração cinza foi verificada esta mesma tendência, ou seja, os teores

encontrados nos pós foram superiores aos das sementes inteiras. Segundo a ANVISA¹⁷ o teor de resíduo mineral fixo, em noz-moscada não deve ser superior a 3%, portanto o encontrado nos lotes analisados estão conforme a norma especificada para este quesito.

Mc Kee et al.⁶ empregaram o método de arraste a vapor, recomendado pela ASTA (Official Analytical Methods of American Spice Trade Association), para determinar o efeito da moagem sobre a composição de sementes de noz-moscada. Os valores de umidade encontrados foram em torno de 6,8g/100g, inferiores aos 8% recomendados pela US Federal Specification. Os autores atribuíram a diferença às perdas por evaporação de voláteis durante a moagem. No presente trabalho os valores obtidos foram superiores a estes valores, sugerindo que a determinação de umidade por gravimetria à baixas temperaturas (60°C) com aeração não ocasionou a evaporação de voláteis de forma marcada e nem o processo de moagem das amostras antes da determinação.

Mc Kee et al.⁶ também extraíram lipídios com acetona e refluxo tipo Soxhlet das sementes de noz-moscada e os valores obtidos variaram entre 22 e 46g/100g. Novamente a variabilidade foi atribuída ao efeito das temperaturas de moagem das amostras e à própria característica das sementes nos diferentes lotes estudados. Os resultados apresentados na Tabela 1, para extrato etéreo, apresentaram faixa de variação semelhante, sendo a exceção um lote de amostras comercializadas sob a forma de particulados, ainda que, em termos de causas de variabilidade, não se possa comparar os procedimentos adotados pelos autores e o empregado neste trabalho.

Óleos voláteis de noz-moscada

Os teores de lipídios encontrados pela extração a frio das amostras de noz-moscada em pó e em semente foram respectivamente 19g/100g (CV = 16%) e 33g/100g (CV = 13%) com índices de refração de 1,4516 (CV = 1,4%) e 1,4612 (CV = 1,5%) respectivamente. Os percentuais lipídicos encontrados foram menores que os da extração descontínua a quente (Soxhlet), mantiveram a tendência de valores menores para as amostras comercializadas sob a forma de pó, porém foram comparáveis aos teores mencionados por Mc Kee et al.⁶ e em sites sobre o tema noz-moscada e suas propriedades e usos³.

Os resultados da destilação hidrotérmica dos óleos voláteis das amostras de noz-moscada e das frações lipídicas extraídas a frio encontram-se na Tabela 2, bem como os índices de refração empregados como indicativo de uniformidade de condições de destilação e de coleta de destilado.

Os rendimentos do processo de extração hidrotérmica dos voláteis das amostras de noz-moscada em pó foram menores que os da fração lipídica, e consideravelmente inferiores aos mencionados, 4,5 e 5,6g/100g, da literatura^{1,3,6}. Isto indica que mesmo destilação sendo realizada por tempos superiores a 60 minutos o contato do vapor com o interior matriz sólida não foi suficiente para extrair os voláteis, o que foi comprovado pela constância do índice de refração observada ao se realizar a

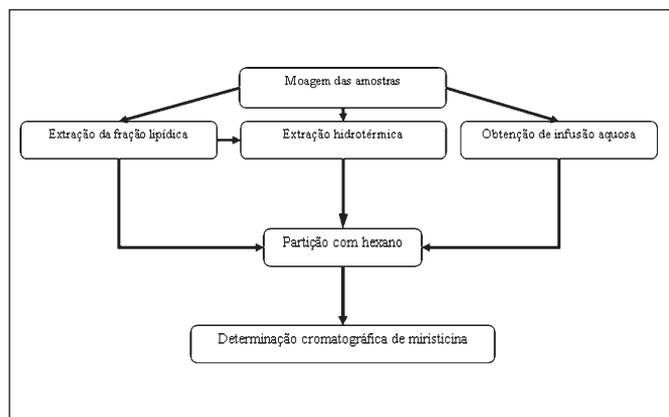


Figura 1. Fluxograma das etapas da determinação de miristicina em preparados de noz-moscada.

destilação durante um intervalo de 3 horas. As sementes comercializadas na forma de pó apresentavam rendimentos em voláteis ainda menores que os das sementes inteiras, o que pode estar também associado a perdas anteriores ao processo analítico.

Autores como Sanford e Heinz¹⁸; Soliman e Badeaa³; Hirasa e Takemasa,¹ e Tomaino et al.¹⁰ mencionam grande variabilidades no conteúdo de óleos essenciais em vegetais aromáticos empregados como condimento, decorrentes das condições de cultivo, preparo e armazenamento do material, além dos efeitos inerentes da metodologia de determinação. No caso deste trabalho, o extrato hidrotérmico da fração lipídica das sementes de noz-moscada foi o que apresentou rendimento em voláteis semelhante aos citados pela literatura^{1,3,6}.

Determinação de miristicina

Para determinar os tempos de retenção da miristicina nas condições cromatográficas adotadas foram injetadas seis repetições de padrão na concentração de 200ng/μL, sendo encontrado o tempo médio de 15,6 minutos com um coeficiente de variação de 0,6%, o que demonstra a estabilidade das condições de aquisição dos dados no equipamento. As concentrações de padrão injetadas para obtenção da curva analítica variaram entre 10 e 250ng/μL, sendo a relação concentração x sinal representada pela equação 1.

$$y = 0,31x + 0,02 \quad r = 0,99 \text{ (equação 1)}$$

Tabela 1. Composição centesimal das amostras de noz-moscada expressos em g/100g.

Lotes	umidade (CV%)	cinzas (CV%)	Proteínas (CV%)	Extrato etéreo (CV%)	outros
1	10,3 (15%) ^a	2,5 (13%) ^a	5,9 (11%) ^a	36,0 (14%) ^a	45,3
2	9,3 (17%) ^b	2,8 (7%) ^a	9,5 (6,9%) ^b	26,9 (13%) ^b	63,6
3	6,7 (9%) ^c	1,9 (11%) ^b	12,9 (9,5%) ^c	15,2 (6%) ^c	63,3
4	10,4 (12%) ^a	1,6 (8%) ^c	7,7 (5,0%) ^d	38,0 (14%) ^a	42,3
5	9,0 (15%) ^b	2,0 (7%) ^b	8,3 (6,3%) ^e	37,2 (14%) ^a	43,3
6	11,0 (16%) ^d	1,8 (9%) ^b	6,8 (6,2%) ^f	38,6 (15%) ^a	41,8

1,2,3: lotes constituídos por marcas de noz-moscada comercializadas em pó

4,5,6: lotes constituídos por marcas de noz-moscada comercializadas como sementes

Letras diferentes: diferença significativa em nível de 95%

CV% = coeficiente de variação de 6 determinações

Tabela 2. Conteúdo de óleos voláteis e índice de refração de amostras de noz moscada.

Determinações	Noz-moscada moída	Sementes de Noz-moscada
g/100g de óleo no EH	0,6 (CV= 5,3%)	1 (CV= 7,0)
$\eta^{55^\circ\text{C}}$ EH	1,3411 (CV = 1,3%)	1,3631 (CV = 1,5%)
g/100g de óleo EH da fração lipídica	3,6 (CV=7%)	8,1 (CV=5%)
$\eta^{55^\circ\text{C}}$ do óleo EH da fração lipídica	1,3623 (CV= 1,2%)	1,3717 (CV= 1,4%)

EH: extrato hidrotérmico; η : índice de refração; CV = coeficiente de variação;

Tabela 3. Características do método para determinação de miristicina em Cromatografia Gasosa em diferentes frações de noz-moscada.

Características	EH das sementes	Fração lipídica	EH do óleo bruto	Infusão
T retenção (minutos)	15,6 (CV=2,6%)	15,4 (CV=2,2%)	15,8 (CV=2,9%)	15,3 (CV=2%)
LD (ng)	10	10	10	10
LQ (mg/g am)	8	6	3	7,5
Recuperação média (%)	66	85	88	82
Repetibilidade (CV %)	16	10	9	12

T retenção: tempo de retenção; CV: coeficiente de variação; LD: limite de detecção;

LQ: limite de quantificação; EH: extrato hidrotérmico

As características do método padronizado para determinação de miristicina no extrato hidrotérmico das amostras particuladas, na fração lipídica e seu respectivo extrato hidrotérmico e na infusão estão apresentados na Tabela 3.

Os resultados das Tabelas 2 e 3 nortearam as estratégias analíticas adotadas para determinar miristicina nas frações de sementes e pó de noz-moscada. Os maiores limites de quantificação e menores níveis de recuperação e repetibilidade foram encontrados para a determinação de miristicina nas amostras de noz-moscada em pó, consistente com os menores rendimentos em óleos voláteis anteriormente salientado.

Nos cromatogramas dos extratos hidrotérmicos das sementes e de pó de noz-moscadas e de suas respectivas frações lipídicas e na infusão foram detectados seis picos, distintamente separados entre si, como pode ser verificado na Figura 2. O pico correspondente ao tempo de retenção do padrão de miristicina foi confirmado por co-cromatografia com diferentes concentrações de padrão adicionadas aos extratos. Os teores percentuais encontrados dos picos cromatográficos da miristicina correspondiam a 22%; 33%; 19% e 24% respectivamente.

Em 1981, Schenk e Damparsky¹⁹ relataram que diferentes métodos cromatográficos até então empregados permitiam identificar a presença de 14 monoterpenos, 8 sesquiterpenos, compostos insaturados e derivados de trans isômeros de álcoois insaturados. Outros autores separaram óleos essenciais de noz-moscada por cromatografia gasosa e dentre eles destacam-se Tomaino et al.¹⁰ que mencionaram a detecção 7 picos correspondentes ao α pineno, β pineno, sabineno, δ terpineno; terpinen-4-ol, safrol e miristicina que correspondia a aproximadamente 35% do total dos picos detectados. Harvey²⁰ determinou os componentes de extratos de noz-moscada em acetato de etila derivados com trimetilsilil e encontrou 11 derivados de difenilpropanoides.

Na Tabela 4 estão os resultados das determinações de miristicina nas frações das amostras coletadas neste estudo

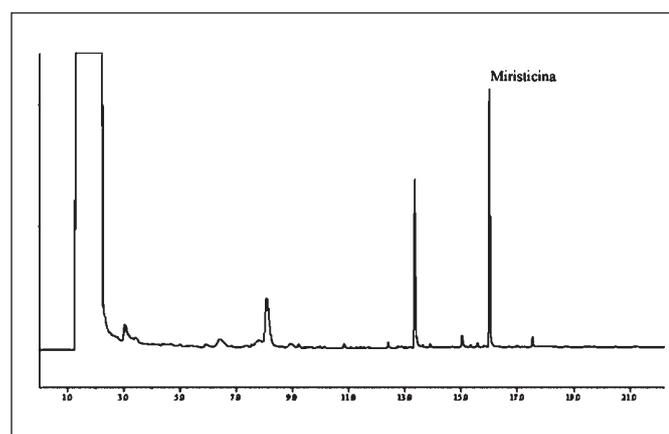


Figura 2. Cromatograma de extrato hidrotérmico de fração lipídica de noz-moscada.

separadas e quantificadas por cromatografia gasosa e as estimativas do conteúdo em grama da fração.

Os dados da Tabela 4 indicam que o emprego de óleo de noz-moscada como flavorizante de bebidas tipo cola e em outras formulações representaria o maior risco de consumo crônico de miristicina para o consumidor, comparados aos valores da fração lipídica e seus respectivos extratos hidrotérmicos. Os teores de miristicina encontrados no extrato hidrotérmico das sementes inteiras analisadas neste trabalho foram ligeiramente superiores aos mencionados por Lee et al.¹² (10mg/g amostra).

Considerando-se que a massa média de uma semente de noz moscada, usada para preparo de chás, possui em média 8g que são usados para preparo de infusão em xícara de 200mL, o consumo de todo o volume significaria uma ingestão estimada de 104mg do composto. Os valores ingeridos quando a noz-moscada é empregada para o preparo de molhos e doces como pó ou semente ralada não podem ser estimados em vista da imprecisão das medidas, mas o perfil de distribuição avaliado faz supor que o aporte não acarretaria riscos de efeitos psicoativos agudos a menos que outras fontes de miristicina fossem associadas numa refeição.

Estas estimativas sugerem que seriam interessantes estudos de efeitos crônicos da ingestão de miristicina, especialmente para os indivíduos jovens que consomem com frequência bebidas tipo cola e outros produtos flavorizados com o óleo essencial da semente.

Outro aspecto que corrobora com esta consideração foi demonstrado por Yun et al.¹³ que ao estudar o metabolismo oxidativo de enzimas microsossomais de fígado humano determinaram que 0,176 μ M de miristicina foram oxidados por minuto por μ M de enzima resultando no principal metabolito 5-alil-1-metoxi-2,3 dihidroxybenzeno, excretado pela urina. Estes autores salientam que uma série de compostos da dieta empregam esta mesma via de oxidação para excreção e que o acúmulo de miristicina pode ocorrer, em caso de efeitos competitivos resultando em transtornos psicoativos. Estes efeitos foram registrados pelo Centro de Envenenamento do Texas, entre os anos de 1998 e 2004, sendo 65% dos casos decorrentes de uso abusivo, nos demais ocorreram os sintomas

Tabela 4. Conteúdo de miristicina em amostras de noz-moscada.

Fração noz-moscada	μ g/mL de extrato	mg/g de amostra
EH particulados	12	8
EH sementes	21	14
FL particulados	27	18
FL de sementes	37,5	25
EH/FL particulados	12,4	22,4
EH/FL sementes	36,3	37,4
Infusão	4	10

EH: extrato hidrotérmico; FL: fração lipídica

típicos de intoxicação por outras substâncias tóxicas²¹. No caso das amostras estudadas neste trabalho as estimativas de risco mostram que este seria maior quando se emprega noz-moscada para preparo de infusão ou os óleos voláteis da semente.

CONCLUSÃO

As sementes de noz moscada comercializadas na forma de pó, empregadas neste trabalho, apresentam maior variabilidade em sua composição centesimal, especialmente demonstrada pelo teor de nitrogênio (6 a 13g/100g) e extrato etéreo (15 a 36 9g/100g).

O procedimento proposto para determinar miristicina mostrou a melhor performance quando a determinação é realizada no extrato hidrotérmico da fração lipídica extraída a frio, especificamente representados por 88% de recuperação, coeficiente de variação 9% e limite de quantificação de 3mg/g de amostra. No extrato hidrotérmico da fração lipídica das sementes inteiras foi detectado o maior valor, 37mg/g.

Em vista dos teores de miristicina encontrados nos preparados estudados seria recomendável que se avaliasse o efeito do consumo crônico de infusões e bebidas preparadas com noz-moscada ou seus óleos essenciais.

REFERÊNCIAS

1. Hirasa K, Takemasa M. Ciência e tecnologia de lãs especias. 1st ed. Tokio (Japan): Marcel Dekker, Inc. Editorial Acricbia S.A.; 2002.
2. Vicenzi M, Vicenzi A, Silano, MC. Constituents of aromatic plants: elemicin. *Fitoterapia* 2004; 75: 615-8.
3. Wikimedia Commons. Noz moscada. [cited 2007 July 07]. Available from URL: <http://pt.wikipedia.org>
4. Morgan R. Enciclopédia das Ervas e Plantas Medicinais. São Paulo (SP): Editora Hemus; 1994.
5. McKee LH, Thompson LD, Harden MI. Effect of three grinding methods on some properties of Nutmeg. *Lebersm. Wiss u Techn.* 1993; 74: 121-5.
6. Nguetack J, Leth, V, Amvam Zotto, PH, Mathur, SB. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Camerom for controlling food spoilage and mycotoxin producun fungi. *Int J Food Microbiol* 2004; 94: 329-4.
7. Soliman KM, Badeaa RI. Effect of extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem Toxicol* 2003; 40: 1669-5.
8. Sacramento CK. Especiarias como alternativas em sistemas agrofloretais. [cited 2007 July 07]. Available from URL: <http://www.sbsaf.org.br/anais/2002/trabalhos>
9. Randerath K, Puttman KL, Randerath TH. Flavor constituents in cola drinks induce hepatic DNA adducts in adult and fetal mice. *Biochem Biophys Res* 2004; 192 (1): 61-9.
10. Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti A, Venuti AA, De Pasquale A, Saija, A. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chem* 2002; 40: 1669-5.
11. Choo LC, Wong SM, Liew, KY. Essential oil of nutmeg pericarp. *J. Sci Food Agric* 1999; 79: 1954-7.
12. Lee HY, Jeong TC, Jeong HK. In vitro and in vivo metabolism of myristicin in the rat. *J Chromatogr B.* 1998; 367-2.
13. Yun CH, Lee HS, Lee HY, Kim H, Kim E, Yea SS, Guengerich, P. Roles of human liver cytochrome P450 3A4 and IA2 enzymes in the oxidation of myristicin. *Toxicol Lett* 2003; 137: 133-50.
14. Hoffmann A, Heiden A, Pfannkoch E. Flavor profiling of beverages by stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC/MS/PFPD, *Global Anal.* 2000; 4: 1-9
15. Association of Official Agricultural Chemists International. Official methods of analysis. Arlington; 2000.
16. Bligh EG, Dyer WJ. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Phys.* 1959; 37(8): 911-7.
17. Brasil. Resolução nº 12, de 1978 da CNNPA, 1978. Dispõe sobre Especificações para condimentos. ANVISA; c2007 [atualizado 2007]. Available from: <http://www.anvisa.br>
18. Sanford KJ, Heinz DE. Effects of storage on the volatile composition of nutmeg. *Phytochem* 1971; 10: 1245-50.
19. Schenk HP, Lamparsky D. Analysis of nutmeg oil using chromatographic methods. *J Chromatogr A* 1981; 2004: 391-5.
20. Harvey DJ. Examination of the diphenylpropanoids of nutmeg as their trimethylsilyl, triethylsilyl and tri-n-propylsilyl derivatives using combined gas chromatography and mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1995; 110: 91-02.
21. Forrester MB. Nutmeg intoxication in Texas, 1998-2004. *Hum Exp Toxicol.* 2005; 24(11): 563-6.